

(19) HU

MAGYAR
NÉPKÖZTÁRSASÁGORSZÁGOS
TALÁLMÁNYI
HIVATALSZABADALMI
LEÍRÁS

(11)

193048 (13)E

(22) A bejelentés napja: 83.09.30. (21) 3420/83
(89) Származási ország: 231.228.CS.(33) CS: \cup
(32) 82.10.01.
(31) (PV 7013—82)(41) (42) A közzététel napja: 1984. aug. 28.
(45) Megjelent: 1988.jun.6.(51) Int. Cl.
C 07 K 5/08; 5/10
//A 61 K 37/02(72) Feltalálók:
Kasafirek Evzen, dr. Fric Premysl,
dr. Slaby Jan, Roubalová Alena,
Prága, CS(73) Szabadalmas:
Spofa, Prága, CS

(54) ELJÁRÁS BIOLÓGIAILAG HATÁSOS
TRI- ÉS TETRAPEPTID-ALKIL-AMID-
-SZÁRMAZÉKOK ELŐÁLLÍTÁSÁRA

(57) KIVONAT

A találmány tárgya eljárás biológiailag határos tri- és tetrapeptid-alkil-amid-származékok előállítására. A találmány szerinti vegyületek (I) általános képletében

R^1 jelentése 1—5 szénatomos alkilcsoport;
A jelentése peptidkötésben lévő alanin- vagy prolincsoport;
B jelentése peptidkötésben lévő glicin-, alanin- vagy prolincsoport;
n értéke 1 vagy 2; és
 R^2 jelentése 1—12 szénatomos (alkil-karbonil)-amino-csoport vagy dodecenil-csoport vagy (benzil-oxi-karbonil-amino)-csoport.

Az (I)-általános képletű vegyületeket a találmány értelmében úgy állítják elő, hogy egy (II) általános képletű vegyületet — ahol R^1 , A és B jelentése ugyanaz, mint az (I) általános képletben — egy (III) általános képletű vegyülettel — amelyben R^2 és n jelentése ugyanaz, mint az (I) általános képletben, és R^3 1—4 szénatomos alkilcsoportot vagy 7 szénatomos aralkilcsoportot jelent — kondenzálnak, majd az így kapott (IV) általános képletű vegyületből — amelyben R^1 , R^2 , A, B és n jelentése ugyanaz, mint az (I) általános képletben, és R^3 jelentése ugyanaz, mint az (III) általános képletben — az R^3 védőcsoportot eltávolítják.

A találmány szerinti vegyületek az elasztáz enzimét gátolják, és így alkalmasak hasnyálmirigygyulladás, légúti elzáródásokkal járó tüdőbetegségek és ízületi gyulladások kezelésére.



A találmány biológiaiilag hatásos tri- és tetrapeptid-alkil-amid-származékok és ilyen vegyületeket tartalmazó gyógyszerkészítmények előállítására vonatkozik. Közelebről, a találmány tárgya eljárás az (I) általános képletű peptid-alkil-amid-származékok előállítására, ahol a képletben

R¹ jelentése 1—5 szénatomos alkilcsoport;
A jelentése peptidkötésben lévő alanin- vagy prolincsoport;

B jelentése peptidkötésben lévő glicin-, alanin- vagy prolincsoport;

n értéke 1 vagy 2; és

R² jelentése 1—12 szénatomos (alkil-karbonil)-amino-csoport vagy dodecenilcsoport vagy (benzil-oxi-karbonil-amino)-csoport.

A 226 907 számú CS. szabadalmi leírásban (szerzői tanúsítványban) — amely peptidjellegű, elasztolízist gátló vegyületekre vonatkozik — igazolták, hogy ezeknek az anyagoknak az elasztáz enzimmel fennálló elektrosztatikus kölcsönhatása az enzimgátlás szempontjából jelentős. Megállapították, hogy ennek az elektrosztatikus kapcsolatnak a helye mind a gátló anyagokban, mind a szubsztrátumokban a molekula N-terminális végén lokalizálható (Eur. J. Biochem. 69, 1/1976/; FEBS Lett. 40, 353 /1974/). Ez a kölcsönhatás dikarbonsavcsoportok — például borostyánkősav- vagy glutársavcsoportok — útján jön létre.

Az aszparagin- vagy glutaminsavcsoportnak a gátló vegyületek peptidláncának

N-terminális végére való beépítésével ugyanúgy el tudtuk érni az elektrosztatikus kölcsönhatást, mint a dezaminoszarmazékok — azaz a borostyánkősav- vagy glutársavcsoport esetében. Abból a célból, hogy a karboxilcsoport anionos kötését a jelenlévő alfa-amincsoport — intramolekuláris közömbösítés következtében — ne gyengítse, az aminocsoport befolyását acil-szubsztitúcióval küszöböltük ki. Meglepő módon azt találtuk, hogy az inhibitor molekula N-terminális végén a karboxilcsoport szomszédságában egy hidrofób csoport bevitele az anionos jellegű inhibitor gátlóképességét erősen fokozza. A K_i (gátlási állandó) ilyen potenciozása nincsen korlátozva az acilezett aszparagin- vagy glutaminsavcsoportra; a borostyánkősav- vagy a glutársav alkenil-származékai hasonló hatást fejtenek ki.

Az anionos jellegű elasztáz-gátlóknak ez az új típusa — amely beépített N-acilezett aszparagin- vagy glutaminsavcsoportokat, vagy borostyánkősav- vagy glutársav-alkenil-származékokat tartalmaz az inhibitor molekula N-terminális végén — jól modellezi az elasztáz enzim természetes szubsztrátumát, azaz az elasztint. Ismeretes, hogy az elasztin jelentős mennyiségű savanyú és hidrofób aminosavat tartalmaz. Ezek az anyagok in vitro kísérletekben erősen gátolják a hasnyálmirigyből és a leukocitákból származó elasztázt; ennek eredményeit az 1. táblázatban foglaltuk össze.

1. Táblázat

A találmány szerinti elasztáz-gátló vegyületek
gátlási állandói (K_i)

Gátló anyag	PE	K _i (mmol)	LE
	Glt-/Ala/ ₄ -NAn Glt-/Ala/ ₃ - Suc-/Ala/ ₄ -NAn -Val-NAn		
Ac-Asc-Ala-Ala-Pro-NH-iBu	0,12		0,191
	0,19		
Ac-Asp-Pro-Ala-Ala-NH-Et	0,034		1,0
	0,025		
Btr-Glu-Ala-Ala-Pro-NH-Pr	0,193		0,18
	0,178		
Btr-Asp-Ala-Ala-Pro-NH-iBu	0,12		0,136
	0,12		
Dde-Ala-Ala-Ala-NH-Et	0,0018		nincs
	0,0025		gátlás
Dde-Ala-Ala-Ala-NH-iBu	0,093		0,515
	0,099		
Dde-Ala-Ala-Pro-NH-Pr	0,0006		0,10
	0,0005		
UDA-Asp-Ala-Ala-Pro-NH-Et	0,0054		0,012

Z-Glu-Ala-Ala-Ala-NH-Et	0,173		0,72
	0,028		

A táblázatban használt rövidítések:

Suc=szukcinil, azaz 3-karboxi-propionil;
Glt=glutaril, azaz 4-karboxi-butiril; NAn=
=4-nitro-anilid; Ac=acetyl; Btr=butiril;
Dde=2-dodecenyl-szukcinil; UDA=undekanoil;
Et=etil; Pr=propil; iBu=izobutil;
Z=benzil-oxi-karbonil; PE=hasnyálmirigy-
-elasztáz; LE=leukocita-elasztáz.

E bejelentésünkben leírt gátló vegyületek nemtermészetes csoportokat nem tartalmaznak, és így terápiás alkalmazásuk során — különösen a heveny hasnyálmirigygyulladás, krónikus, légúti elzáródással járó tüdőbetegség és egyes gyulladások kezelése során — nemkívánt mellékhatások nem várhatók.

Az (I) általános képletű, biológiailag hatásos tri- és tetrapeptid-alkil-amid-származékokat például úgy állíthatjuk elő, hogy egy (II) általános képletű vegyületet — ahol R^1 , A és B jelentése ugyanaz, mint az (I) általános képletben — egy (III) általános képletű vegyülettel — amelyben R^2 és n jelentése ugyanaz, mint az (I) általános képletben, és R^3 1–4 szénatomos alkilcsoportot vagy 7 szénatomos aralkilcsoportot jelent — kondenzálunk, majd az így kapott (IV) általános képletű vegyületből — amelyben R^1 , R^2 , A, B, és n jelentése ugyanaz, mint az (I) általános képletben, és R^3 jelentése ugyanaz, mint a (III) általános képletben — az R^3 védőcsoportot eltávolítjuk.

A találmány szerint úgy is járhatunk, hogy egy (II) általános képletű vegyületet — ahol R^1 , A és B jelentése ugyanaz, mint az (I) általános képletben — egy (V) általános képletű vegyülettel — amelyben n értéke ugyanaz, mint az (I) általános képletben, R^3 jelentése ugyanaz, mint a (III) képletben, és Y védőcsoportot jelent — kondenzálunk, és az így kapott (VI) általános képletű vegyületből — ahol R^1 , A, B és n jelentése ugyanaz, mint az (I) általános képletben, R^3 jelentése ugyanaz, mint a (III) általános képletben, és Y jelentése ugyanaz, mint az (V) általános képletben — a védőcsoportot eltávolítjuk, és az így nyert közbelső terméket egy (VII) általános képletű vegyület — amelyben R^2 jelentése a dodecenilcsoportot kivéve ugyanaz, mint az (I) általános képletben — reakcióképes karbonsavszármazékával, előnyösen az anhidridjével, halogenidjével vagy észterével reagáltatjuk.

A találmány értelmében még úgy is járhatunk, hogy egy (VI) általános képletű vegyületet — ahol R^1 , A, B és n jelentése ugyanaz, mint az (I) általános képletben, R^3 jelentése ugyanaz, mint a (III) általános képletben és Y jelentése ugyanaz, mint az (V) általános képletben — az R^3 és Y védőcsoportok eltávolítása után egy (VII) általános képletű vegyület — amelyben R^2 jelentése a dodecenilcsoportot kivéve ugyanaz, mint az (I) általános képletben — valamilyen reakcióképes karbonsavszármazékával,

különösen az anhidridjével, halogenidjével vagy észterével reagáltatunk.

A találmány szerinti eljárás egy további megvalósítása szerint úgy is eljárhatunk, hogy egy (II) általános képletű vegyületet — ahol R^1 , A és B jelentése ugyanaz, mint az (I) általános képletben — egy (VIII) általános képletű vegyülettel — amelyben R^2 és n jelentése ugyanaz, mint az (I) általános képletben — előnyösen anhidridje, monohalogenidje vagy észtere alakjában kondenzálunk.

A találmány szerinti, biológiailag aktív peptidok szintézisét lényegében a fragmentumok kondenzációja útján oldatban, vagy az aminosavak lépésenkénti beépítésével, tehát az úgynevezett „stepwise” módszerrel hajtjuk végre; a szintézist azonban szilárd hordozón is megvalósíthatjuk.

A találmány szerinti eljárásban a közbelső termékek védőcsoportjaként uretán-típusú csoportot — például a (benzil-oxi-karbonil)-csoportot — alkalmazunk; használhatunk azonban gyengén savas lehasítható csoportokat — például a tercier-butoxi-karbonil- vagy az (o-nitro-benzol-szulfenil)-csoportot — is; valamint alkalmazhatunk fémmel, adott esetben elektrolízissel redukálható csoportokat — például (2-halogén-etil-oxi-karbonil)-csoportot — is.

A kondenzációs reakciókat az azid-, karbodiimid- vagy a vegyes anhidrid-módszerrel hajtjuk végre. Alkalmazhatunk azonban bármilyen más, a peptidszintézisben használatos módszert is.

A találmány szerinti eljárást az alábbi kiviteli példákban részletesen ismertetjük.

1. példa

N-Acetil-aszparagil-alanil-alanil-prolin-(izobutil-amid)- β -benzil-észter előállításához 530 mg (2 mmól) N-acetil-aszparaginsav- β -benzil-észter és 630 mg (2 mmól) alanil-alanil-prolin-(izobutil-amid) 20 ml dimetil-formamiddal készült oldatát -20°C -ra hűtjük, és 440 mg N,N'-diciklohexil-karbodiimidet adunk hozzá. Az elegyet 3 órán keresztül 0°C hőmérsékleten keverjük, utána 12 órán át szobahőmérsékleten állni hagyjuk, a kicsapódott N,N'-diciklohexil-karbamidot kiszűrjük, dimetil-formamiddal mossuk, és a szűrletet vákuumban bepároljuk. A maradékot 8 ml etil-acetátban 30°C hőmérsékleten oldjuk, az oldatban maradékot kiszűrjük, és 2 ml acetáttal mossuk. A szűrletet 12 órán át 3°C hőmérsékleten állni hagyjuk, és a kivált kristályos terméket kiszűrjük. Így 540 mg (45%) hozammal kapjuk a cím szerinti vegyületet, op.: $176-179^\circ\text{C}$.

Elemenálízis a $\text{C}_{28}\text{H}_{41}\text{N}_5\text{O}_8$ összegképlet alapján ($M=559,7$):

számított: C 60,09; H 7,38; N 12,51 %;
kapott: C 59,78; H 7,47; N 12,54 %.

N-Acetil-aszparagil-alanil-alanil-prolin-(izobutil-amid) előállításához

400 mg (0,7 mmól) N-acetil-aszparagil-alanil-alanil-prolin-(izobutil-amid)- β -benzil-észter, 0,5 ml ecetsav és körülbelül 50 mg palládiumfekete 20 ml metanollal készített oldatába 2 órán át hidrogént vezetünk, utána a katalizátort kiszűrjük, metanollal mossuk, és az oldatot vákuumban bepároljuk. A nem kristályos maradékot 15 ml etil-acetátban oldjuk, 12 órán át 3°C hőmérsékleten állni hagyjuk, majd a kivált kristályos terméket szűrjük, előbb etil-acetáttal, utána petroléterrel mossuk, és súlyállandóságig szárítjuk. Így 245 mg hozammal kapjuk a cím szerinti terméket, amelyet elemzés céljára izopropanolból és etil-acetátból átkristályosítunk; op.: 127–131°C. Elemanalízis a $C_{21}H_{35}N_5O_8 \cdot H_2O$ összegképlet alapján ($M=487,6$):

számított: C 51,73; H 7,65; N 14,36%;
kapott: C 51,46; H 7,49; N 13,65%.

2. példa

N-(tercier-butoxi-karbonil)-aszparagil-alanil-alanil-prolin-(izobutil-amid)- β -benzil-észter előállítása

1,6 g (5 mmól) N-(tercier-butoxi-karbonil)-aszparaginsav- β -benzil-észter és 1,56 g (5 mmól) alanil-alanil-prolin-(izobutil-amid) 66 ml dimetil-formamiddal készült oldatához 1,1 g N,N'-diciklohexil-karbodiimidet adunk, az elegyet 3 órán keresztül 0°C-on keverjük, majd 12 órán át szobahőmérsékleten állni hagyjuk, utána a kivált N,N'-diciklohexil-karbamidot kiszűrjük, dimetil-formamiddal mossuk, és a szűrletet vákuumban bepároljuk. A maradékot 60 ml diklór-metánban oldjuk, és rendre kirázzuk előbb 1%-os citromsavoldattal, utána 5%-os nátrium-hidrogén-karbonát oldattal, majd vízzel, vízmentes nátrium-szulfáton megszáritjuk, vákuumban bepároljuk, és benzol-tetrahidrofuran elegyével azeotróposan desztillálva megszáritjuk. A nem kristályos közti terméket használjuk a következő lépés végrehajtásához.

Aszparagil-alanil-alanil-prolin-(izobutil-amid)- β -benzil-észter hidroklorid előállítása

A 2. példa előző lépésében készült termék 5 ml jégecettel készült oldatához 5 ml 2,9 mólos jégecetes hidrogén-klorid-oldatot adunk, 3 órán át szobahőmérsékleten állni hagyjuk, majd 150 ml éter hozzáadásával kicsapjuk az így keletkezett hidrokloridot. Az éteres fázist dekantáljuk, és a maradékot exsikkátorban nátrium-hidroxid és foszfor-pentoxid felett megszáritjuk. Így egy nem kristályos, habszerű, kromatográfiásan egységes terméket kapunk, amelynek R_f értéke n-butanol/ecetsav/víz 4:1:1 arányú elegyével kifejezve 0,30; n-butanol/ecetsav/piridin/víz 15:3:10:6 arányú elegyével kifejezve 0,80.

N-Butiril-aszparagil-alanil-alanil-prolin-(izobutil-amid)- β -benzil-észter előállítása.

A 2. példa előző lépésében kapott terméket 20 ml vízben oldjuk, 5 ml telített, vizes nátrium-hidrogén-karbonát oldatot adunk hozzá, 5°C-ra hűtjük, és 30 perc alatt 5 ml tetrahidrofuranban oldott 1 ml vaj-savanhidridet csepegtetünk hozzá. Az elegyet 30 percig keverjük hűtés közben, majd a reakcióelegyet vákuumban bepároljuk, a maradékot 10 ml forró etil-acetátban szuszpendáljuk, a kivált sót kiszűrjük, és 5 ml etil-acetáttal mossuk. Az oldatot 12 órán át állni hagyjuk, a kicsapódott kristályos terméket kiszűrjük, előbb etil-acetáttal, majd petroléterrel mossuk, és súlyállandóságig szárítjuk. Így 350 mg hozammal kapjuk a cím szerinti terméket, amelynek egy mintáját elemzés céljából etil-acetátból átkristályosítjuk; op.: 149–151°C.

Elemanalízis a $C_{30}H_{45}N_5O_8$ összegképlet alapján ($M=587,7$):

számított: C 61,31; H 7,72; N 11,92%;
kapott: C 60,98; H 7,97; N 11,66%.

N-Butiril-aszparagil-alanil-alanil-prolin-(izobutil-amid) előállítása

A 2. példa előző lépésében kapott terméket az 1. példában leírt módon hidrogenolízisnek alávetve 76% hozammal jutunk a cím szerinti termékhez, amelynek egy mintáját elemzés céljára izopropanol és etil-acetát elegyből átkristályosítjuk; op.: 180–183°C.

Elemanalízis a $C_{12}H_{39}N_5O_7$ összegképlet alapján ($M=497,6$):

számított: C 55,52; H 7,90; N 14,07%;
kapott: C 55,28; H 7,98; N 13,59%.

3. példa

N-(tercier-Butoxi-karbonil)-glutamil-alanil-alanil-alanil-(izobutil-amid)- α -benzil-észter előállítása

665 g (2 mmól) N-(tercier-butoxi-karbonil)-glutaminsav- γ -benzil-észter és 573 mg (2 mmól) alanil-alanil-alanil-(izobutil-amid) 15 ml formamiddal készült oldatához -20°C hőmérsékleten 440 mg N,N'-diciklohexil-karbodiimidet adunk, az elegyet 3 órán át 0°C-on keverjük, majd 12 órán át szobahőmérsékleten állni hagyjuk, a kicsapódott N,N'-diciklohexil-karbamidot kiszűrjük, dimetil-formamiddal mossuk, és a szűrletet vákuumban bepároljuk. A szilárd maradékot etil-acetátban oldjuk, és rendre mossuk 1%-os citromsavoldattal, 5%-os nátrium-hidrogén-karbonát oldattal, majd vízzel, és utána az etil-acetátos oldatot vákuumban bepároljuk. A maradékot 15 ml forró izopropanolban oldjuk, és 150 ml petroléter hozzáadásával kristályosítjuk. Így 670 mg (55%) hozammal kapjuk a cím szerinti terméket, op.: 199–203°C.

Glutamil-alanil-alanil-alanil-(izobutil-amid)- γ -benzil-észter hidroklorid előállítása

A 3. példa előző lépésében kapott terméket a 2. példában leírt módon acidolízisnek alávetve 69% hozammal kapjuk a

cím szerinti terméket, amelynek R_f értéke n-butanol/ecetsav/víz 4:1:1 arányú elegyével kifejelesztve 0,20; n-butanol/ecetsav/piridin/víz 15:3:10:6 arányú elegyével kifejelesztve 0,75.

N-(Kaproil)-glutamil-alanil-alanil-alanin-(izobutil-amid)- α -benzil-észter előállítása
360 mg (0,7 mmól) glutamil-alanil-alanil-alanin-(izobutil-amid)- α -benzil-észter hidroklorid, 10 ml tetrahidrofuran és 40 ml 2,5%-os nátrium-hidrogén-karbonát oldat 10°C-ra hűtött elegyhez két részletben 145 mg kaproil-klorid 2 ml tetrahidrofuranos oldatát csepegtetjük 15 perc alatt. Az elegyet 1 órán át keverjük, majd pH-értékét 1 mólos sósavoldat segítségével 4-re állítjuk, a tetrahidrofuránt vákuumban ledesztilláljuk, és a vizes oldat pH-értékét 2-re állítjuk. Ezután 12 órán át 3°C-on állni hagyjuk, a kivált kristályokat kiszűrjük, vízzel mossuk, és súlyállandóságig szárítjuk. Így 290 mg hozammal kapjuk a cím szerinti terméket, op.: 270—280°C. E termék egy mintáját elemzés céljából izopropanol és etil-acetát elegyből átkristályosítjuk, op.: 266—270°C. Elemanalízis a $C_{33}H_{53}N_5O_7$ összegképlet alapján ($M=631,8$):

számított: C 62,73; H 8,46; N 11,08%.
kapott: C 62,43; H 9,08; N 11,26%.

N-Kaproil-glutamil-alanil-alanil-alanin-(izobutil-amid) előállítása

A 3. példa előző lépésében kapott termék 1. példában leírt módon végzett hidrogenolízisével 62% hozammal jutunk a cím szerinti termékhez, op.: 224—227°C.

4. példa

N-(2-Dodecenil-szukcinil)-alanil-alanil-alanin-(etil-amid) előállítása

520 mg (2 mmól) alanil-alanil-alanin-(etil-amid) és 10 ml dimetil-formamid oldatához 1,05 g 2-dodecenil-borostyánkősav-anhidridet adunk, és az elegyet egy órán át 70°C-on melegítjük, majd a dimetil-formamidot vákuumban lepároljuk, és a maradékot petroléterrel kicsapjuk. Izopropanol és petroléter keverékéből való átkristályosítás után a cím szerinti terméket 72% hozammal kapjuk, op.: 225—229°C. Egy mintát elemzés céljára ismételtlen átkristályosítva az op.: 231—234°C-ra emelkedik, R_f -értéke n-butanol/ecetsav/víz 4:1:1 arányú elegyével kifejelesztve 0,73; n-butanol/ecetsav/piridin/víz 15:3:10:6 arányú elegyével kifejelesztve 0,78; $[\alpha]_D^{20}$ -4,08° ($c=0,2$, dimetil-formamid). Elemanalízis a $C_{27}H_{48}N_4O_6$ összegképlet alapján ($M=524,7$)

számított: C 61,81; H 9,22; N 10,68%.
kapott: C 61,92; H 9,40; N 10,28%.

5. példa

N-(2-Dodecenil-szukcinil)-alanil-alanil-alanin-(prolin-amid) előállítása

E vegyületet a 4. példában leírt etil-amidhoz hasonlóan állítjuk elő 66% hozammal. A termék egy mintáját elemzés céljára izopropanol és petroléter elegyből átkristályosítjuk, op.: 97—99°C; $[\alpha]_D^{20}$ -48,8° ($c=0,2$, dimetil-formamid).

Elemanalízis a $C_{30}H_{52}N_4O_6 \cdot 1/2H_2O$ összegképlet alapján ($M=573,8$):

számított: C 62,80; H 9,31; N 9,76%.
kapott: C 62,97; H 9,75; N 9,75%.

6. példa

N-(Benzil-oxi-karbonil)-glutamil-alanil-alanil-prolin-(etil-amid) előállítása

600 mg (2 mmól) alanil-alanil-prolin-(etil-amid) és 10 ml dimetil-formamid oldatához 600 mg (2,4 mmól) N-(benzil-oxi-karbonil)-glutaminsav-anhidridet adunk, és utána az elegyet egy órán át 60°C-on melegítjük, majd vákuumban bepároljuk, a nem kristályos maradékot 30 ml etil-acetáttal átkeverjük, és 12 órán át 3°C hőmérsékleten állni hagyjuk. A kristályosan kivált terméket szűrjük, etil-acetáttal és petroléterrel mossuk. Így 1,1 g hozammal jutunk a cím szerinti termékhez, op.: 75—80°C. E termék egy mintáját elemzés céljára etil-acetát és petroléter elegyből átkristályosítjuk, op.: 101—103°C.

Elemanalízis a $C_{26}H_{37}N_5O_8 \cdot 3H_2O$ összegképlet alapján ($M=601,6$)

számított: C 51,91; H 7,20; N 11,64%.
kapott: C 52,31; H 6,98; N 11,57%.

7. példa

N-(Benzil-oxi-karbonil)-glicil-alanil-alanil-prolin-(izobutil-amid) előállítása

7,84 g (28 mmól) N-(benzil-oxi-karbonil)-glicil-alanin, 3,92 g N-hidroxi-benzotriazol, 50 ml kloroform és 30 ml dimetil-formamid -5°C-ra hűtött oldatához 6,61 g N,N'-diciklohexil-karbodiimidet adunk, és utána az elegyet 2 órán át 0°C-on, majd 3 órán át szobahőmérsékleten keverjük, majd a kicsapódott N,N'-diciklohexil-karbamidot kiszűrjük, a szűrletet vákuumban bepároljuk, a maradékot butanolban oldjuk, és rendre 1%-os citromsavoldattal, 5%-os nátrium-hidrogén-karbonát oldattal, majd vízzel mossuk, a szerves fázist vízmentes nátrium-szulfáton szárítjuk, és vákuumban bepároljuk. A maradékot etil-acetáttal átkristályosítva a cím szerinti terméket 4,5 g (37%) hozammal kapjuk. Egy mintát elemzés céljára etil-acetáttal ismételtlen átkristályosítunk, op.: 135—137°C; $[\alpha]_D^{20}$ -72,7° ($c=0,2$, dimetil-formamid). Elemanalízis a $C_{22}H_{32}N_4O_5$ összegképlet alapján ($M=432,5$):

számított: C 61,09; H 7,46; N 12,95%.
kapott: C 60,91; H 7,57; N 12,85%.

N-Acetil-aszparagil-glicil-alanil-prolin-(izobutil-amid)- β -benzil-észter előállítása

E vegyületet az 1. példában leírt N-acetil-tetrapeptidhez hasonló módon állítjuk elő 52% hozammal, op.: 185—190°C.

N-Acetil-aszparagil-glicil-alanil-prolin-(izobutil-amid) előállítása

E vegyületet az 1. példában leírt N-acetil-tetrapeptid-(izobutil-amid)-hoz hasonló módon állítjuk elő, op.: 142–146°C.

8. példa

N-(tercier-Butoxi-karbonil)-aszparagil-alanil-alanil-prolin-(etil-amid)-β-benzil-észter előállítása

E vegyületet a 7. példában leírt eljárás-hoz hasonló módon N-(tercier-butoxi-karbonil)-aszparaginsavból és alanil-alanil-prolin-(etil-amid)-β-benzil-észterből a karbodiimid-módszerrel állítjuk elő 68% hozammal. R_f-értéke n-butanol/ecetsav/víz 4:1:1 arányú elegyével kifejezve 0,75.

N-Undekanoil-aszparagil-alanil-alanil-prolin-(etil-amid) előállítása

E vegyületet a 3. példában leírt izobutil-amidhoz hasonlóan állítjuk elő, azzal a különbséggel, hogy az acilezéshez undekanoil-kloridot használunk. Elemzés céljára egy mintát vízből átkristályosítunk, op.: 184–189°C. Az aminosavelemzés eredménye: aszparaginsav (1,02), prolin (1,04) és alanin (1,97). Elemanalízis a C₂₈H₅₀N₅O₇·H₂O összegképlet alapján (M=586,8)

számított: C 57,32; H 8,93; N 11,93%;
kapott: C 56,94; H 8,55; N 11,80%.

9. példa

N-(Benzil-oxi-karbonil)-prolil-alanil-alanin-(etil-amid) előállítása

E vegyületet a 7. példában leírt eljárás-hoz hasonlóan N-(benzil-oxi-karbonil)-prolil-alaninból és alanin-(etil-amid)-ból a karbodiimid módszerrel állítjuk elő. Elemzés céljára egy mintát izopropanol és etil-acetát elegyéből átkristályosítunk, op.: 219–220°C; [α]_D²⁰ -36,2° (c=0,2, dimetil-formamid). Elemanalízis a C₂₁H₃₀N₄O₅ összegképlet alapján (M=418,5):

számított: C 60,27; H 7,23; N 13,39%;
kapott: C 60,08; H 7,41; N 13,22%.

N-(tercier-Butoxi-karbonil)-aszparagil-prolil-alanil-alanin-(etil-amid)-β-benzil-észter előállítása

2

E vegyületet a 2. példában leírt, megfelelő izobutil-amidhoz hasonló módon állítjuk elő. Egy mintát elemzés céljára etil-acetát és petroléter elegyéből átkristályosítunk, op.: 133–136°C; [α]_D²⁰ -61,1° (c=0,2, metanol).

Elemanalízis a C₂₉H₄₃N₅O₈ összegképlet alapján (M=589,6):

számított: C 59,08; H 7,35; N 11,88%;
kapott: C 58,78; H 7,21; N 11,38%.

Aszparagil-prolil-alanil-alanin-(etil-amid)-β-benzil-észter hidroklorid előállítása

E vegyületet a 2. példában leírt, megfelelő izobutil-amidhoz hasonló módon állítjuk elő. Elemzés céljára egy mintát metanolból és éterből átkristályosítunk, op.: 189–193°C. Elemanalízis a C₂₄H₃₄N₅O₆·HCl·H₂O összegképlet alapján (M=543,0):

számított: C 52,99; H 7,04; N 12,87%;
kapott: C 52,83; H 6,74; N 13,01%.

N-Acetil-aszparagil-prolil-alanil-alanin-(etil-amid)-β-benzil-észter előállítása

E vegyületet a butirilszármazékhöz hasonló módon állítjuk elő, azzal a különbséggel, hogy az acilezést ecetsavanhidriddel végezzük. Elemzés céljára egy mintát etil-acetát és petroléter elegyéből átkristályosítunk, op.: 191–193°C; [α]_D²⁰ -68,5° (c=0,2, metanol). Elemanalízis a C₂₆H₃₇N₅O₇ összegképlet alapján (M=531,52):

számított: C 58,75; H 7,02; N 13,18%;
kapott: C 58,85; H 6,98; N 13,01%.

N-Acetil-aszparagil-prolil-alanil-alanin-(etil-amid) előállítása

E vegyületet az 1. példában leírt acetilszármazékhöz hasonló módon, a megfelelő β-benzil-észter hidrogenolízisével állítjuk elő, op.: 153–155°C (143°C-on zsugorodik).

A patkányok bal talpán 100 μg sertéshasnyálmirigy-elasztáz szubkután befecskendezésével ödémát váltottunk ki. A gátló anyagokat az elasztáz beadása előtt 30 perccel az állatok hátán szubkután úton adagoltuk.

2. Táblázat

A kísérleti úton előidézett patkánytalp-ödéma gátlása

A gátló anyag	Mennyiség mg	A gátlás biztonsági valószínűsége	
		2 óra	3 óra
UDA-Asp-Ala-Ala-Pro-NH-Et	5	0,32	0,11
Dde-Ala-Ala-Pro-NH-Pr	20	0,26	0,46
Dde-Ala-Ala-Pro-NH-Pr	5	0,11	2,28

A táblázatban használt rövidítések:

UDA = undekanoil;

Et = etil;

Dde = 2-dodecenil-szukcinil és

Pr = propil.

SZABADALMI IGÉNYPONTOK

1. Eljárás az (I) általános képletű, biológiailag hatásos tri- és tetrapeptid-alkil-amid-származékok előállítására — ahol az (I) képletben

R^1 jelentése 1—5 szénatomos alkilcsoport;
A jelentése peptidkötésben lévő alanin- vagy prolincsoport;

B jelentése peptidkötésben lévő glicin-, alanin- vagy prolincsoport;

n értéke 1 vagy 2; és

R^2 jelentése 1-12 szénatomos (alkil-karbonil)-amino-csoport vagy dodecenilcsoport vagy (benzil-oxi-karbonil-amino)-csoport,

azzal jellemezve, hogy

a) egy (II) általános képletű vegyületet — ahol R^1 , A és B jelentése ugyanaz, mint az (I) általános képletben — egy (III) általános képletű vegyülettel — amelyben R^2 és n jelentése ugyanaz, mint az (I) általános képletben, és R^3 1—4 szénatomos alkilcsoportot vagy 7 szénatomos aralkilcsoportot jelent — kondenzálunk, majd az így kapott (IV) általános képletű vegyületből, amelyben R^1 , R^2 , A, B és n jelentése ugyanaz, mint az (I) általános képletben, és R^3 jelentése ugyanaz, mint a (III) általános képletben — az R^3 védőcsoportot eltávolítjuk.

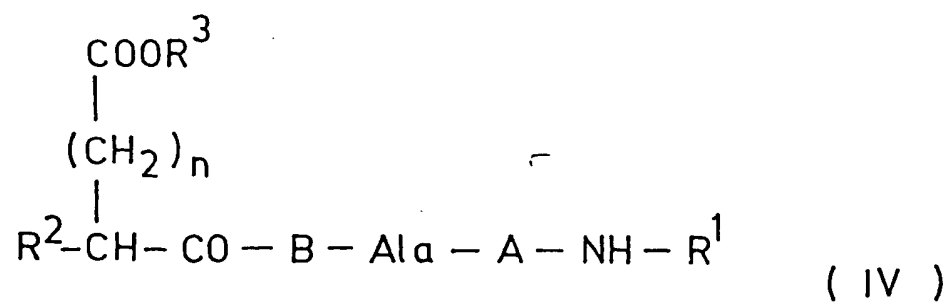
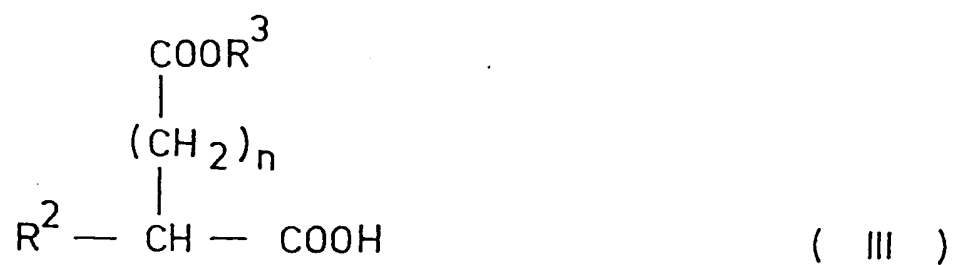
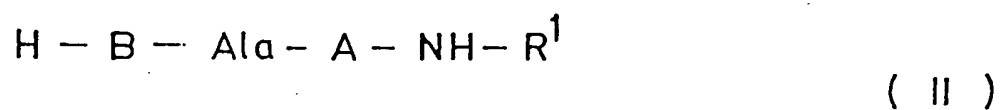
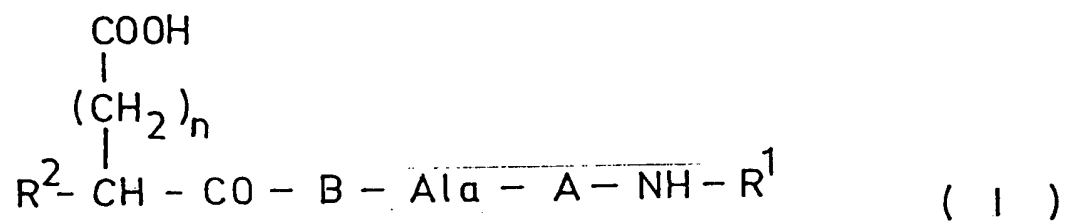
2. Eljárás az 1. igénypont szerinti (I) általános képletű biológiailag hatásos tri-

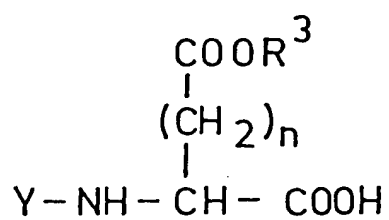
és tetrapeptid-alkil-amid-származékok előállítására — ahol R^1 , A, B és n jelentése ugyanaz, mint az (I) általános képletben, és R^2 jelentése a fentiekben meghatározott

(alkil-karbonil-amino)- vagy (benzil-oxi-karbonil-amino)-csoport, *azzal jellemezve*, hogy egy (II) általános képletű vegyületet — amelyben R^1 , A és B jelentése ugyanaz, mint az (I) általános képletben — egy (V) általános képletű vegyülettel — amelyben R^3 és n jelentése ugyanaz, mint a (III) általános képletben, és Y védőcsoportot jelent — kondenzálunk, az így kapott (VI) általános képletű vegyületből, ahol R^1 , A, B és n jelentése ugyanaz, mint az (I) általános képletben, R^3 jelentése ugyanaz, mint a (III) általános képletben, és Y jelentése ugyanaz, mint az (V) általános képletben, az Y védőcsoportot eltávolítjuk, és az így nyert közbelső terméket egy (VII) általános képletű vegyületet — amelyben R^2 jelentése a dodecenilcsoportot kivéve ugyanaz, mint az (I) általános képletben — reakcióképes karbonsavszármazékával, előnyösen az anhidridjével, halogenidjével vagy észterével reagáltatjuk.

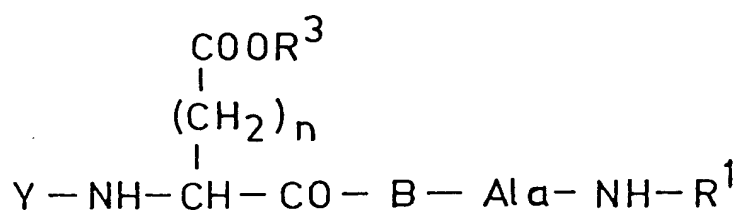
3. Eljárás az 1. igénypont szerinti (I) általános képletű biológiailag hatásos tri- és tetrapeptid-alkil-amid-származékok előállítására, *azzal jellemezve*, hogy egy (II) általános képletű vegyületet — ahol R^1 , A és B jelentése ugyanaz, mint az (I) általános képletben — egy (VIII) általános képletű vegyülettel — amelyben R^2 és n jelentése ugyanaz, mint az (I) általános képletben — előnyösen annak anhidridje, monohalogenidje vagy észtere alakjában kondenzálunk.

2 rajz, VIII képlet

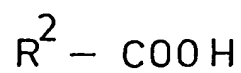




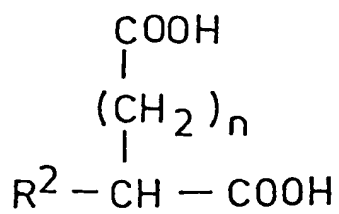
(V)



(VI)



(VII)



(VIII)